

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Tanaman Lada (*Piper nigrum* Linn.)

##### 1. Uraian Tanaman

Klasifikasi tanaman lada (Ditjenbun, 2013) :

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)

Subkingdom : Tracheobionata (Tumbuhan berpembuluh)

Super Divisi : Spermatophyta (Tumbuhan berbiji)

Divisi : Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)

Kelas : Magnoliidae

Sub-kelas : Monocotyledonae

Ordo : Piperales

Famili : Piperaceae (Suku sirih-sirihan)

Genus : Piper

Spesies : *Piper nigrum* L



**Gambar 1.** Tanaman Lada (*Piper nigrum* Linn.)  
(Vasavirama *et al.*, 2014)

Tanaman ini adalah batang pokok berkayu, beruas-ruas dan tumbuh merambat dengan menggunakan akar pelekat pada tiang panjat atau menjalar

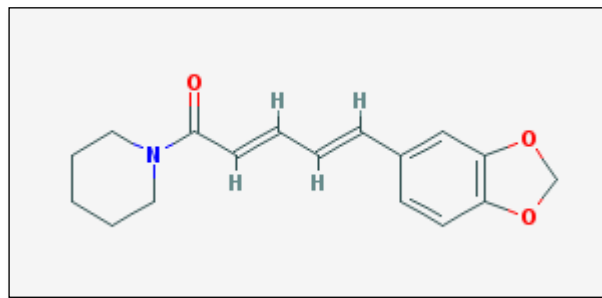
di atas permukaan tanah. Tanaman lada merupakan akar tunggang dan memiliki daun tunggal, berseling dan tersebar (Tjitrosoepomo, 2004).

Daun berbentuk bulat telur sampai memanjang dengan ujung meruncing (Rismunandar, 2007). Buah merupakan produksi pokok daripada hasil tanaman lada. Buah lada berbentuk bulat, berbiji keras dan berkulit buah yang lunak. Kulit buah yang masih muda berwarna hijau, sedangkan yang tua berwarna kuning. Buah yang sudah masak berwarna merah, berlendir dengan rasa manis. Sesudah dikeringkan lada berwarna hitam. buah lada merupakan buah duduk, yang melekat pada malai. Besar kulit dan bijinya 4-6 mm, sedangkan besarnya biji 3-4 mm. Berat 100 biji kurang lebih 38 gram atau rata-rata 4,5 gram. Kulit buah atau pericarp terdiri dari 3 bagian, yaitu epicarp (kulit luar), mesocarp (kulit tengah), endocarp (kulit dalam) (Rismunandar, 2007).

Kulit ini terdapat biji-biji yang merupakan produk dari lada, biji-biji ini juga mempunyai lapisan kulit yang keras (Sutarno dan Agus Andoko, 2005). Buah lada umumnya dikenal dalam dua jenis, yaitu lada hitam dan lada putih. Yang membedakan kedua jenis ini adalah proses pembuatannya. Proses pembuatan lada hitam adalah dengan mengambil buah yang masih hijau, diperam, kemudian dijemur sampai kering. Dari penjemuran diperoleh buah lada yang keriput dan berwarna kehitam-hitaman. Sedangkan lada putih diambil dari buah yang hampir masak, direndam, dan dikupas kulitnya yang kemudian dijemur hingga berwarna putih (Rismunandar, 2007).

## 2. Kandungan dan Manfaat *Piper nigrum* Linn.

*Piper nigrum* Linn. dalam ekstrak *aquoeous*, ekstrak metanol dan ekstrak etanol positif mengandung karbohidrat, protein, tannin, fenol, kumarin, alkaloid dan antrakuinon. Kandungan alkaloid *Piper nigrum* Linn. sebanyak 5-9% mengandung senyawa utama piperin, piperidin, piperetin, dan piperenin (Kadam *et al*, 2013). Penelitian mengenai alkaloid mendapat perhatian khusus karena memberikan aktivitas yang menjanjikan seperti antiinflamasi, antibakteri, anti-asma, dll. (Khusbhu *et al*, 2011).



**Gambar 2.** Struktur Kimia Piperin  
(Sumber : Pubchem)

Rumus kimia piperin adalah  $C_{17}H_{19}NO_3$ . Struktur kimia piperin dapat dilihat pada Gambar 2. Kristal piperin berwarna kuning, larut dalam eter, etanol, metanol, klorofom, sedikit larut dalam air (Kolhe, 2011). Rentang titik lebur piperin adalah 128-130°C (Adosraku, 2013) sedangkan larutan piperin dalam etanol menyerap panjang gelombang maksimal pada 360 nm (Kolhe, 2011).

## B. Analisis Kandungan Alkaloid Lada *Piper nigrum* Linn.

### 1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan menarik kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dilakukan dengan pelarut

cair (Depkes RI, 2000). Pemisahan tersebut didasarkan pada kemampuan larutan yang berbeda tiap komponennya sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya. Ekstraksi didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harbone, 1987; Dirjen POM, 1986).

Sokhletasi adalah ekstraksi dengan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan pelarut yang jumlahnya relatif konstan dan selalu baru dilengkapi dengan pendingin balik. (Ditjen POM, 2000).

## **2. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas dan elektroforesis. Zat penjerat (fase diam) pada KLT berupa lapisan tipis serbuk halus yang dilapiskan pada lempeng kaca, pelat plastik atau logam secara merata. Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara menaik (*ascending*) atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*) (Farmakope Herbal Indonesia Edisi Pertama, 2009; Abdul Rohman, 2007). Uji alkaloid dengan metode KLT dapat diamati dengan menggunakan pereaksi *dragendorf*.

### 3. Spektrofotometri UV-Vis

Panjang gelombang Ultraviolet maupun cahaya tampak jauh lebih pendek dari pada inframerah namun memiliki energi yang lebih tinggi. Spektrum cahaya tampak berada pada rentang 400-750 nm sedangkan UV berada pada rentang 100-400 nm. Absorpsi cahaya UV atau tampak akan mengakibatkan transisi elektronik (Fessenden, 1982). Absorpsi cahaya pada daerah uv-vis hanya akan menghasilkan transisi elektron pada transisi  $n \rightarrow \pi^*$  dan transisi  $\pi \rightarrow \pi^*$  (Royal Society of Chemistry, 2009). Hal tersebut disebabkan karena energi yang diperlukan untuk transisi  $n \rightarrow \pi^*$  dan transisi  $\pi \rightarrow \pi^*$  sesuai dengan energi sinar yang terletak diantara panjang gelombang 200-700 nm yang merupakan panjang gelombang pada spektrofotometer UV-Vis (Gandjar dan Rohman, 2007).

Spektra UV-vis dapat digunakan sebagai informasi kualitatif maupun kuantitatif. Data yang diperoleh dari spektroskopi UV dan Vis adalah panjang gelombang maksimal, intensitas, efek pH, dan pelarut yang dapat dibandingkan dengan data acuan. Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang dengan absorbansi maksimal (Gandjar dan Rohman, 2007).

### 4. *Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR)*

Instrumen *Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR)* berdasarkan pada interferometer yang terdiri dari *beam splitter*, cermin diam, dan cermin bergerak. Sinar radiasi yang berasal dari sumber melewati *beam splitter* dan terbagi menjadi dua berkas yang direfleksikan pada cermin

yang diam dan berkas lainnya direfleksikan pada cermin yang bergerak tegak lurus. Cermin merefleksikan kembali radiasi pada beam splitter berulang kali menghasilkan satu berkas sampai pada detektor dan berkas yang lain kembali ke sumber (Stuart, 2004).

Spektrofotometer inframerah merupakan instrumen yang digunakan untuk mengukur resapan radiasi infra merah pada berbagai panjang gelombang (Fessenden, 1982). Radiasi inframerah terletak pada spektrum elektromagnetik antara daerah visibel dan daerah *microwave* (gelombang mikro). Penggunaannya paling banyak untuk kimia organik pada batas panjang gelombang antara 4000 dan 400  $\text{cm}^{-1}$ . Spektrum vibrasi tampak berupa pita. Ada dua tipe vibrasi molekuler yaitu *stretching* dan *bending*. Hanya vibrasi yang menghasilkan perubahan secara ritmik pada momen dipol yang diobservasi dalam IR (Silverstein, 2005).

Daerah antara 1400-4000  $\text{cm}^{-1}$  pada bagian kiri spectrum inframerah merupakan daerah khusus untuk identifikasi gugus-gugus fungsional dimana daerah absorpsi diakibatkan oleh *stretching*. Daerah disebelah kanan 1400  $\text{cm}^{-1}$  seringkali rumit karena absorpsi disebabkan oleh adanya *stretching* dan *bending*. Dalam daerah ini biasanya hubungan antara pita serapan dan gugus fungsional spesifik tidak dapat diamati dengan cermat. Namun, suatu senyawa pasti memiliki resapan tertentu yang unik di daerah ini sehingga disebut dengan *fingerprint region*/daerah sidik jari (Fessenden, 1982).

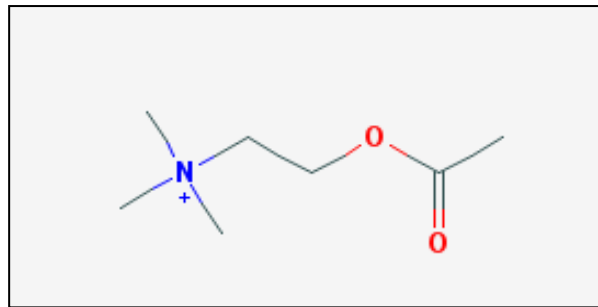
## 5. Uji Titik Lebur

Titik lebur senyawa murni organik solid merupakan jarak temperatur ketika bentuk padat setimbang dengan bentuk cairnya. Titik lebur merupakan salah satu karakteristik untuk menentukan kemurnian substansi solid. Titik lebur menunjukkan rentang temperatur dari pertama kali kristal dari substansi solid meleleh hingga kristal tersebut meleleh seluruhnya. Kristal solid yang murni memiliki rentang titik lebur yang sempit yaitu 1-2°C (Hart H, *et al.*, 2012).

### C. Reseptor Asetilkolin

Asetilkolin merupakan neurotransmitter utama saraf parasimpatis yang mengatur saluran pernafasan. Asetilkolin juga banyak dilepaskan oleh sel non-neuron, seperti sel epitel bronkus dan sel inflamasi (Wessler dan Kirkpatrick, 2001). Sistem pernapasan diatur oleh saraf parasimpatis. Semua aktivitas rangsangan saraf parasimpatis berawal dari aktivasi reseptor muskarinik yang terletak pada otot polos saluran pernafasan, saluran cerna, kelenjar submukosa, pembuluh darah dan sel saraf (Mak dan Barnes, 1990).

Asetilkolin bertanggung jawab terhadap kontraksi otot polos, bronkokonstriksi dan sekresi mukus. Asetilkolin dapat mengaktivasi reseptor muskarinik dan nikotinic. Efek pelepasan asetilkolin adalah terjadinya hiperaktivitas saluran pernafasan, saluran cerna, kontraksi otot polos, peningkatan sintesis dan sekresi mukus selama reaksi inflamasi, seperti penderita asma dan PPOK (Sonar dan Renz, 2009).



**Gambar 3.** Struktur Kimia Asetilkolin  
(Sumber : Pubchem)

## D. Interaksi Obat Dengan Reseptor

### 1. Obat Agonis dan Antagonis

Obat agonis berikatan dengan suatu cara untuk memacu reseptor secara langsung atau tidak hingga memberikan efek. Pada beberapa reseptor, mekanisme yang terjadi melalui satu molekul yang berikatan pada reseptor sehingga memberikan efek langsung. Untuk reseptor lain harus berikatan dengan satu atau lebih molekul pasangan (*coupling molecule*) yang terpisah dengan molekul yang memberikan efek.

Obat antagonis bekerja dengan cara menghambat reseptor berikatan dengan molekul lain. Misalnya, antikolinergik bekerja dengan cara menyekat reseptor asetilkolin sehingga tidak dapat berikatan dengan asetilkolin atau agonis serupa yang dapat berikatan pada reseptor tersebut. Zat-zat antagonis seperti ini mengurangi efek dari asetilkolin. (Katzung *et al.*,2000).



## 2. Hubungan Konsentrasi Obat dengan Respon

Dalam pengontrolan sistem *in vitro*, hubungan antara konsentrasi obat dan efeknya dapat dijelaskan secara matematik. Hubungan antara konsentrasi dan efek obat dijelaskan oleh suatu kurva hiperbola dengan persamaan sebagai berikut

$$E = \frac{(Emax) \times C}{C + EC_{50}}$$

Dimana E merupakan efek yang dihasilkan pada konsentrasi C,  $E_{max}$  merupakan respon maksimal yang dihasilkan obat dan  $EC_{50}$  merupakan konsentrasi obat yang menghasilkan 50% efek maksimal. Nilai  $EC_{50}$  dapat digunakan untuk mencari parameter afinitas agonis terhadap reseptor ( $pD_2$ ). Nilai  $pD_2$  adalah minus logaritma dari  $EC_{50}$ . Semakin besar nilai  $pD_2$  semakin besar afinitas agonis terhadap reseptor (Janković *et al.*, 1999).

### E. Percobaan Dengan Organ Terisolasi

Percobaan menggunakan organ terisolasi digunakan untuk menganalisa hubungan dosis-respon suatu senyawa obat. Walaupun beberapa metode tingkat molekuler telah tersedia untuk mempelajari respon seluler suatu obat, namun metode organ terisolasi masih dianggap sebagai metode yang baik untuk menelusuri aktivitas farmakologi suatu obat (Lullmann *et.al.*, 2000).

Perubahan-perubahan yang terjadi pada tingkat jaringan atau organ karena pengaruh suatu senyawa kimia dapat dipelajari lebih mendalam dan akurat dengan cara mengisolasi suatu organ atau jaringan dari suatu sistem fisiologis. Sebagai contoh, senyawa vasokonstriktor dapat diukur aktivitasnya

dengan menggunakan beberapa bagian pembuluh darah terisolasi, seperti vena portal atau vena saphenous, mesentric, arteri koroner dan arteri basiler. Organ atau bagian organ yang diisolasi akan mampu tetap bertahan hidup selama beberapa jam di luar tubuh jika organ dikondisikan tetap berada dalam lingkungan fisiologisnya, yaitu dengan cara pemberian cairan fisiologis dalam temperatur yang sesuai, asupan oksigen dan nutrisi yang tepat dari luar (Lullmann *et.al.*, 2000).

Rangsangan fisiologis dan farmakologis terhadap organ terisolasi selanjutnya dapat tercatat dengan menggunakan alat perekam yang tepat. Efek kontraksi pembuluh darah akan tercatat dengan mengkondisikan pembuluh darah dengan bantuan dua penjepit atau penahan sedemikian rupa dalam alat organ terisolasi dengan sedikit diberi tekanan (Lullmann *et.al.*, 2000).

Percobaan dengan menggunakan organ terisolasi memiliki beberapa keuntungan, diantaranya adalah sebagai berikut (Lullman *et al.*, 2000) :

- a. Konsentrasi obat pada jaringan bisa diketahui dengan pasti
- b. Sistem obat terisolasi bersifat lebih sederhana, sehingga adanya kemudahan dalam mengamati hubungan rangsangan dan respon
- c. Jika dibandingkan dengan efek yang terjadi ketika menggunakan organisme utuh, metode organ terisolasi sangat memungkinkan untuk menghindari efek kompensasi yang akan mengurangi efek mencapai separuhnya.
- d. Metode organ terisolasi mempunyai kemampuan untuk mengukur efek sampai pada efek dengan intensitas maksimum. Hal ini tidak sepenuhnya dapat dilakukan ketika menggunakan organisme utuh, seperti efek

konotropik negatif dari suatu obat tidak bisa dilanjutkan sampai pada efek maksimumnya, karena akan mengakibatkan berhentinya denyut jantung (*cardiac arrest*) pada organisme hidup sehingga hal ini tidak bisa dilakukan. Beberapa kelemahan percobaan dengan organ terisolasi (Lullmann, *et.al.*, 2000; Niemeyer dan Bingham, 1972 ) :

- a. Kerusakan jaringan selama pembedahan tidak dapat dihindarkan
- b. Hilangnya regulasi fisiologis dari fungsi organ terisolasi,
- c. Lingkungan fisiologis buatan tidak sepenuhnya sama dengan cairan fisiologis dalam tubuh, sehingga lama kelamaan akan berpengaruh buruk terhadap jaringan.
- d. Tidak dapat digunakan pada penelitian yang membutuhkan waktu terisolasi hanya mampu bertahan hidup selama 4 jam.

#### **F. Metode *In silico* Menggunakan *Molecular Docking***

*Molecular docking* merupakan suatu teknik yang bisa digunakan untuk mempelajari interaksi yang terjadi dari suatu kompleks molekul antara biomolekul dengan molekul kecil atau ligan. Interaksi kompleks molekul tersebut berorientasi untuk mencapai kestabilan. Tujuan dari *Molecular docking* ini adalah ini adalah pemodelan struktur dan memprediksi aktivitasnya secara akurat (Kitchan, 2004). Proses pengikatan molekul terhadap molekul target tidak sederhana, entropi dan enthalpy adalah faktor yang mempengaruhi antara molekul kecil dan molekul target tersebut (Alonso *et al*, 2006).

Terdapat dua aspek dalam *molecular docking*, yaitu fungsi *scoring* dan penggunaan algoritma. Algoritma *docking* berfungsi untuk mengidentifikasi energi yang dihasilkan dari konformasi molekular dan kemudian mencari konformasi yang memiliki energy bebas paling rendah dalam sistem. *AutoDock* merupakan salah satu software untuk *docking* ligan baik rigid ataupun fleksibel yang menggunakan *grid-based force* field untuk mengevaluasi interaksi suatu kompleks (Krane dan Raymer, 2003).

### **G. Landasan Teori**

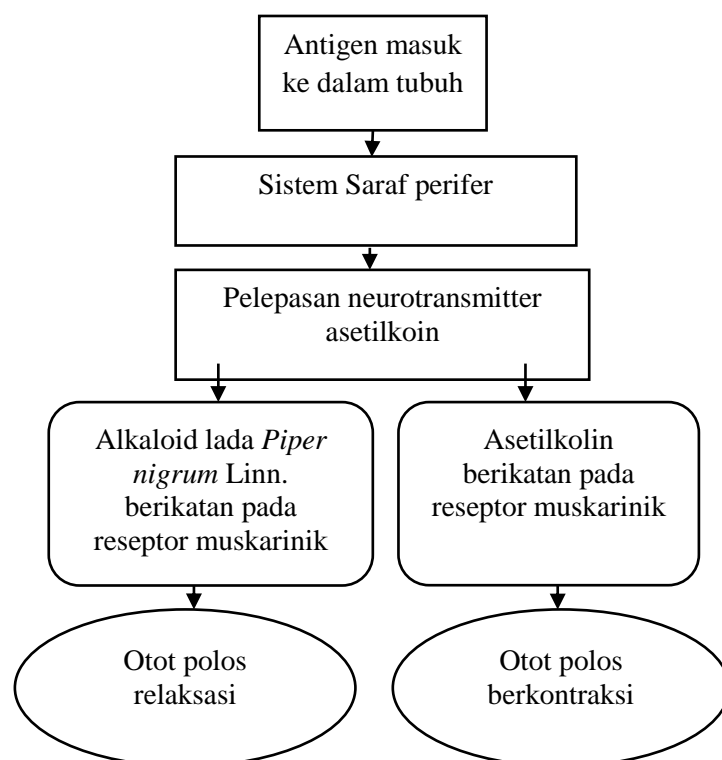
Reseptor asetilkolin muskarinik dibagi menjadi lima subtipe (M1-M5) yang berikatan dengan protein G. Respon terhadap aktivasi reseptor muskarinik oleh asetilkolin tergantung pada subtipe reseptor tersebut serta lokasinya. Subtipe yang terdistribusi pada otot polos adalah M2 dan M3 (Ikawati, 2008).

Reseptor M3 merupakan reseptor muskarinik yang paling luas distribusinya dalam berbagai organ, terutama pada otot polos dan kelenjar eksokrin. Reseptor ini memperantarai berbagai efek biologis seperti kontraksi bronkus, kontraksi kandung kemih, kontraksi saluran cerna, salivasi dan lakrimasi. Aktivasi reseptor M3 akan mengaktifkan sistem fosfolipase C yang akan memobilisasi kalsium (Ca) sehingga berperan dalam kontraksi otot (Ikawati, 2008).

Piperin (*Piper nigrum* Linn.) berdasarkan penelitian terkait tanaman ini dilaporkan memiliki efek antiinflamasi, antinosisitif antiarthritis dengan jalan menghambat beberapa mediator inflamasi (Bang, *et al.*, 2009). Selain itu

pengujian secara *in vivo* ekstrak biji *Piper nigrum L.* terbukti memiliki efek bronkodilatasi pada tikus yang diinduksi ovalbumin (Antony, 2010). Piperin juga terbukti dapat menghambat degranulasi sel mast melalui mekanisme penghambatan *phosphatidylinositol 4-kinase(s)* yang terlibat dalam proses degranulasi sel mast (Bojjireddy *et al.*, 2014).

#### H. Kerangka Konsep



**Gambar 4.** Kerangka Konsep

#### N. Hipotesis

- a. Isolat alkaloid lada *Piper nigrum* Linn. mampu menghambat kontraksi otot polos ileum marmut terisolasi yang diinduksi agonis reseptor asetilkolin.

- b. Dosis 5000  $\mu$ M alkaloid lada *Piper nigrum* Linn. lebih efektif menghambat kontraksi otot polos ileum marmut terisolasi yang diinduksi agonis reseptor asetilkolin.
- c. Skor yang dihasilkan dari isolate alkaloid lada *Piper nigrum* Linn. mampu berikatan dengan reseptor ACh berdasarkan analisis *molecular docking*